

· 基础研究 ·

小鼠原始卵泡形成过程中可变剪切的动态变化

孙文亚,何元林,陈秋臻,李 晶*

南京医科大学生殖医学国家重点实验室,江苏 南京 211166

[摘要] 目的:通过对新生小鼠卵巢单个生殖细胞转录组数据进行挖掘,探究可变剪切事件是否参与调控小鼠卵泡组装过程的阶段转换。方法:基于小鼠单个生殖细胞转录组数据,用生物信息学方法分析卵泡组装过程3个细胞发育阶段的可变剪切事件及阶段转换之间的差异可变剪切事件,并用PCR验证差异可变剪切相关同源异构体的变化。结果:在小鼠卵泡组装3个发育阶段转换之间均检测到差异可变剪切事件,其中卵泡生成阶段可变剪切事件以及包裹破裂到卵泡生成时期的差异可变剪切事件富集最多,PCR验证了减数分裂相关同源异构体的变化。结论:可变剪切和小鼠卵泡组装细胞发育阶段转换相关,调控生殖细胞到卵母细胞转变过程。

[关键词] 卵泡组装;可变剪切;单细胞转录组

[中图分类号] Q756

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2023)07-0893-07

doi:10.7655/NYDXBNS20230701

Dynamic changes of alternative splicing during the formation of mouse primordial follicles

SUN Wenya, HE Yuanlin, CHEN Qiuzhen, LI Jing*

State Key Laboratory of Reproductive Medicine, Nanjing Medical University, Nanjing 211166, China

[Abstract] **Objective:** To investigate whether alternative splicing regulate the stage transition of follicle assembly in mice, the transcriptome data of single germ cells in new born mouse ovary were analyzed. **Methods:** Bioinformatics analysis were performed on transcriptome data of single germ cells in mice to detect alternative splicing events in three cell development stages during follicle assembly and differential alternative splicing events between stage transitions. PCR was used to validate dynamic stage transition related isoform expression. **Results:** The current study found abundant differential alternative splicing events between stage transitions during follicle assembly in mice. The most enriched splicing events were detected in follicle stage, also the most enriched differential splicing events were detected between cyst break down and follicle stage. The results of PCR validated the presence of isoforms of meiosis related genes and showed their shifts of alternative isoform usage at stage transitions. **Conclusion:** Alternative splicing was associated with cell development stage transitions during follicle formation in mice, regulating the transformation from germ cell to oocytes.

[Key words] follicle assembly; alternative splicing; single cell transcriptome

[J Nanjing Med Univ, 2023, 43(07): 893-899]

在哺乳动物中,固定数量的原始卵泡是整个生殖寿命期间可受精的卵母细胞的来源。随着青春期后卵泡的持续周期性发育,原始卵泡储备减少,直至最终耗尽,出现一系列生理变化,如绝经^[1]。人类绝经的平均年龄为51岁(40~60岁);然而,全球仍有1%~2%的女性患有早发性卵巢功能不全(primary

ovarian insufficiency, POI),女性在40岁以前出现卵巢功能减退,主要表现为月经异常、促卵泡激素水平升高、雌激素波动性下降,继而导致生育力下降、不孕^[2]。POI的病因复杂,有研究表明其与原始卵泡早期耗竭有关^[3]。因此,原始卵泡池的建立即原始卵泡组装过程是雌性生殖研究领域的重要课题之一。

小鼠卵泡组装过程开始于胚胎期第17.5天(embryonic day 17.5, E17.5),并在出生后的前3 d内

[基金项目] 国家重点研发计划(2018YFC1004203)

*通信作者(Corresponding author), E-mail: ljw@njmu.edu.cn

完成,在最初卵泡形成的时候,卵巢的整体组织结构发生了巨大的变化,细胞增殖分裂活动十分活跃^[4]。卵泡组装的不同步决定了生殖细胞的异质性,3种生殖细胞(包囊中的生殖细胞、经过包囊破裂的生殖细胞和卵泡中的生殖细胞)在新生雌鼠(postnatal day 0.5, P0.5)卵巢中同时存在^[5]。理论上,这些生殖细胞中转录组的变化可以准确地代表卵泡形成过程中的发育阶段转变。本实验前期通过对P0.5卵巢中收集的146个单个生殖细胞的转录组进行测序,重建了卵泡组装过程中生殖细胞随时间的动态变化,构建了生殖细胞从包囊(E17.5)到包囊破裂(P0.5)再到卵泡形成(P2.5)的单向伪时间发育轨迹,并构建了细胞发育阶段相关的转录因子调控网络^[6]。

可变剪切,也叫选择性剪切,是指在mRNA前体到成熟mRNA的过程中,不同剪切方式使得同一个基因可以产生多个不同的成熟mRNA,最终产生不同的蛋白质。可变剪切导致了转录本和蛋白质结构及功能的多态性,基因表达调控在适应性分化和进化中起着核心作用,调控高度多样化的过程如细胞分化^[7],但大多数研究只探索了转录本水平的进化,而忽略了转录本结构的潜在重要作用^[8]。作为一种关键的基因表达调控机制^[9],该过程在细胞分化和谱系确定、组织特性获取和维护以及器官发育方面发挥作用,转录-剪切耦合调控已在雄性生殖细胞发育中得到证明^[10]。有丝分裂精原细胞向减数分裂精母细胞转变的过程中存在广泛的剪切转录本^[11]。据报道,小鼠和人类MⅡ期卵母细胞中存在保守的阶段特异性转录变体^[12]。成熟生发泡卵母细胞中Srsf3的条件性缺失导致生发泡破裂(germinal vesicle breakdown, GVBD)缺陷,其原因是可变剪切异常和B2正弦转座因子受到抑制^[13]。这一结果显示了可变剪切调控母体转录组的建立。然而,迄今为止,关于卵母细胞发育过程中可变剪切事件动态调控的研究还很少。

本研究通过对单个生殖细胞的转录组数据进一步分析,揭示了卵泡组装过程中富集的可变剪切事件以及差异可变剪切(differential alternative splicing, DAS)对卵母细胞命运的调控,卵泡形成时可变剪切事件最为活跃,包囊破裂到卵泡形成转换时DAS事件最为富集,这为卵细胞转录本多样性或蛋白质多样性提供了支持。这些DAS基因在卵母细胞发育各个阶段的动态差异表达也表明它们有着调节卵母细胞发育分化进程的作用。

1 材料和方法

1.1 材料

成年C57BL/6雌性孕鼠来自北京Vital River实验室,饲养于南京医科大学实验动物中心。所有动物实验方案均经南京医科大学动物实验伦理委员会批准。小鼠在22℃ 12 h/12 h的明暗循环条件下饲养,并提供充足的食物和水。微量总RNA提取试剂盒(RNAprep Pure Micro Kit, DP420, 北京天根生化科技有限公司),PCR引物由南京擎科生物技术有限公司合成,PCRMix(PN 176-5211, Bio-Rad Laboratories, 美国),逆转录酶(南京诺维赞公司),ABI StepOnePlus(赛默飞, 美国),高通量荧光定量PCR仪(Fluidigm, 美国),显微镜(SMZ1000, 尼康)。

1.2 方法

1.2.1 可变剪切与DAS事件的识别

数据来源于本实验室前期从初生小鼠卵巢中收集的146个单个生殖细胞转录组测序结果,NCBI GEO (Gene Expression Omnibus, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>)数据库编号为GSE152407。

7种可变剪切事件包括跳跃外显子(skipping exon, SE)、可变的5'和3'剪切位点(alternative 5' splice site, A5/alternative 3' splice site, A3)、保留内含子(retained intron, RI)、互斥外显子(mutually exclusive exon, ME)以及可变的第一个外显子(alternative first exon, AF)和可变的最后一个外显子(alternative last exon, AL),由SUPPA2^[14](v2.2.1)识别,并使用GENCODE(vM20)注释作为参考。对于每个可变剪切事件,至少有一半的细胞有PSI (percentage or proportion spliced-in)值才认为可变剪切事件存在于这个细胞簇中。然后,应用SUPPA2来识别相邻细胞发育阶段中都存在且 $P < 0.01$ 的DAS事件。最后,使用ggsashimi^[15]绘制桑基图对多个样本的剪切事件进行可视化。

1.2.2 实时定量PCR

分别收集E17.5、P0.5、P2.5母鼠,在Hanks平衡盐溶液中小心地取出卵巢,按照说明书使用RNAprep Pure Micro Kit试剂盒分离总RNA。逆转录后,使用SsoFast EvaGreen Supermix with Low ROX在ABI StepOnePlus平台上进行基于Eva green的RT-PCR。以肌动蛋白扩增信号为内控,采用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 方法量化各种mRNA。用溶解曲线分析评价PCR产物的特异性。引物序列见表1。

表1 实时定量PCR引物序列	
Table 1 Primer sequences of RT-PCR	
基因	序列(5'→3')
Alyref	上游 CACTTTGAACGGAAAGCAGATG
	下游 CACGGTTTCTTGTTCATGCCG
Ccdc12	上游 CACCCCGGAAACCTGATTGG
	下游 CCTTTTAGCCGCTCACGGAT
Brd1	上游 AGTGGGCGGTTGACGAATC
	下游 AGTCAGGCAGCTTTAGTTTCAC
Cdc5l	上游 ATTCTGAAAGCAGCGGTAATGA
	下游 GATCCAGCCATTTCGTACCATC
Ddx1	上游 CTCGGAATGGGTGTTATGCC
	下游 GCCATGAGTACATCCCCTCCT
Fmr1	上游 CAATGGCGCTTTCTACAAGGC
	下游 TCTGGTTGCCAGTTGTTTTCA
Hspa2	上游 GCGTGGGGTATTCCAACAT
	下游 TGAGACGCTCGGTGTCAGT
Hspa8	上游 TCTCGGCACCACCTACTCC
	下游 CTACGCCCGATCAGACGTTT
Zranb2	上游 GAATTTCCGAGTCAGTGACGG
	下游 CCCAGCTTTCATCATCTTGG
Pabpc1	上游 CAAGCCAGTACGCATCATGTG
	下游 TGCTTCCTGTGTTTCAAAGTGT
Rbm38	上游 TGCTCCCCGAGTGTGTTTC
	下游 GTACTTTCTGAGCGATGCGTC
Strap	上游 GTGGTGGATTTGGCCTTCAG
	下游 GGCATCCTTATTCAATGTTGCAC

1.2.3 聚合酶链式反应(PCR)

为了测定同源异构体的分子量和相对表达量,我们收集了 E17.5、P0.5、P2.5 母鼠卵巢,提取总 RNA,逆转录后,使用 Green Taq mix (Vazyme)进行 Touchdown PCR 扩增,严格按照说明书操作,使用引物详见表 2。PCR 产物在 2%琼脂糖凝胶中以 120 V 电泳 30 min,使用 Tanon 1600曝光检测 DNA 的表达,使用 Image J 对荧光强度进行分析,实验重复 3 次。

1.3 统计学方法

所有测量均独立进行,至少重复3次。实时RT-PCR 数据用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,单因素方差分析评价组间差异。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 卵泡组装过程中可变剪切事件

为了探究卵泡组装过程中可变剪切事件随着细胞发育的变化,分析了卵泡组装过程生殖细胞从包囊、包囊破裂到卵泡形成 3 个阶段(图 1A)的可变剪切事件。7 种可变剪切事件类型在 3 个发育阶段

表2 PCR引物序列	
Table 2 Primer sequences of PCR	
基因	序列(5'→3')
Sycp1	上游 CATGCTCGAACAGGTTGCTA
	下游 GCAGATCTAGCACAGGTTTCC
Hormad1	上游 TGAAAGCAAAACAAGAAGCGG
	下游 AGATTCCAAGACGTGAAGGAC
Kdm1a	上游 TGGATGAAAGCTTGGCCAAC
	下游 TTTGAAAAGCTGCACCCTCC
Hnrnpa2b1	上游 CGGAGGTCTTTCTCATCTCG
	下游 GCTTTCCCCATTGCTCATAG
Mael	上游 TTCCTCCCTTGTGAAATTGG
	下游 GTTCCTGGGTTTGGATGTA
Gtsf1	上游 GGGAGAGCTTCTGGACTGAG
	下游 TTTTCAGGTTCCAGGGAGTC
Eif4a2	上游 GTGTCATCGAGAGCAACTGG
	下游 ACTCAATCTCCAAGTGTGCA
Ncl-AF1	上游 GAAAGTGGGAAGCAGTTGGG
	下游 CCTCTTCTCCACTGCTGTCA
Ncl-AF2	上游 GTTGTAAGTGTCTCCAGAGTC
	下游 CCTCTTCTCCACTGCTGTCA

Ncl-AF1,Ncl-AF2 为 Ncl 的两种可变第一个外显子类型的同源异构体。

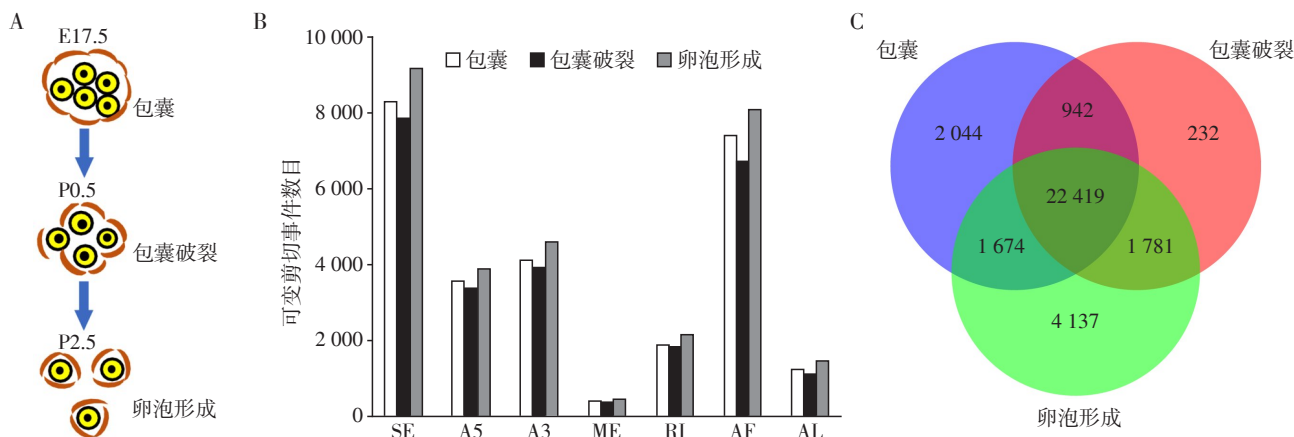
均被识别,其中 SE 类型可变剪切事件最为富集,AF 其次(图 1B),3 个发育阶段细胞的可变剪切事件有较多重合,但仍存在差异(图 1C)。每个发育阶段各类型可变剪切事件数目呈动态变化,卵泡形成时期各类型可变剪切事件最多,包囊时期其次,包囊破裂时期最少,这表明在卵泡组装的进程中,卵泡形成时期可变剪切的调控最为活跃。即通过可变剪切产生的 mRNA 和蛋白质亚型最多,从而调控功能性卵细胞的形成。

2.2 卵泡组装过程中剪切因子变化

使用 SUPPA2 研究单细胞水平不同阶段之间转换时可变剪切的具体变化。小提琴图展示了剪切因子在 3 个发育阶段表达的动态变化(图 2A),其中 Alyref、Ccdc12 的表达随着细胞发育呈上升趋势,在卵泡形成时表达最高,表明这两个剪切因子在功能性卵泡形成时可能发挥重要作用,接下来用 RT-PCR 验证这几个剪切因子在 E17.5、P0.5 和 P2.5 小鼠卵巢中表达量的变化(图 2B)。

2.3 卵泡组装过程中 DAS 事件

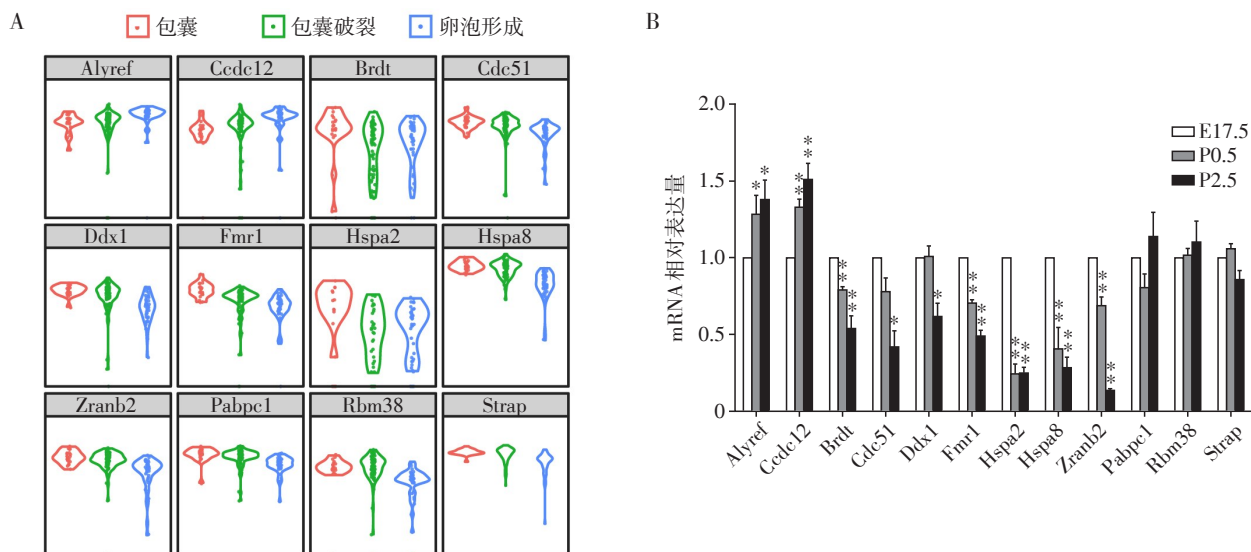
在从包囊到包囊破裂和从包囊破裂到卵泡形成的阶段转换中分别识别出 893 和 2 529 个 DAS 事件($P < 0.01$),包囊破裂到卵泡形成中的 DAS 事件



A: 卵泡组装过程生殖细胞发育阶段: E17.5(包囊)、P0.5(包囊破裂)、P2.5(卵泡形成); B: 卵泡组装过程生殖细胞发育阶段7种可变剪切事件数目; C: 卵泡组装过程生殖细胞发育阶段可变剪切事件的韦恩图, 数字表示可变剪切事件的数目, 重合部分数字表示各个发育阶段可变剪切事件重合的数目。

图1 卵泡组装过程中可变剪切事件

Figure 1 Alternative splicing events during follicle assembly



A: 可变剪切因子在包囊、包囊破裂和卵泡形成3个细胞发育阶段表达的小提琴图; B: RT-PCR 检测可变剪切因子在卵泡组装各个阶段的相对表达量, 与E17.5比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ ($n=3$)。

图2 卵泡组装过程中可变剪切因子的表达

Figure 2 Expression of splicing factors during follicle assembly

增多,再一次表明卵泡形成时可变剪切事件的活跃。此外,细胞发育阶段转换之间的DAS事件类型表现出高度的特异性(表3)。在分析DAS事件的类型时,发现SE和AF是最丰富的剪切形式。与以往对其他细胞类型的研究不同,本研究结果显示卵母细胞中AF类型的可变剪切的比列极高,特别是从包囊破裂过渡到卵泡形成时,共发现676例(26.7%)AF可变剪切事件。卵泡组装过程中细胞发育阶段间的DAS事件再一次表明随着生殖细胞发育进程,可变剪切事件发生了剧烈变化以支持卵细

胞形成时功能性蛋白编码基因的多样性。

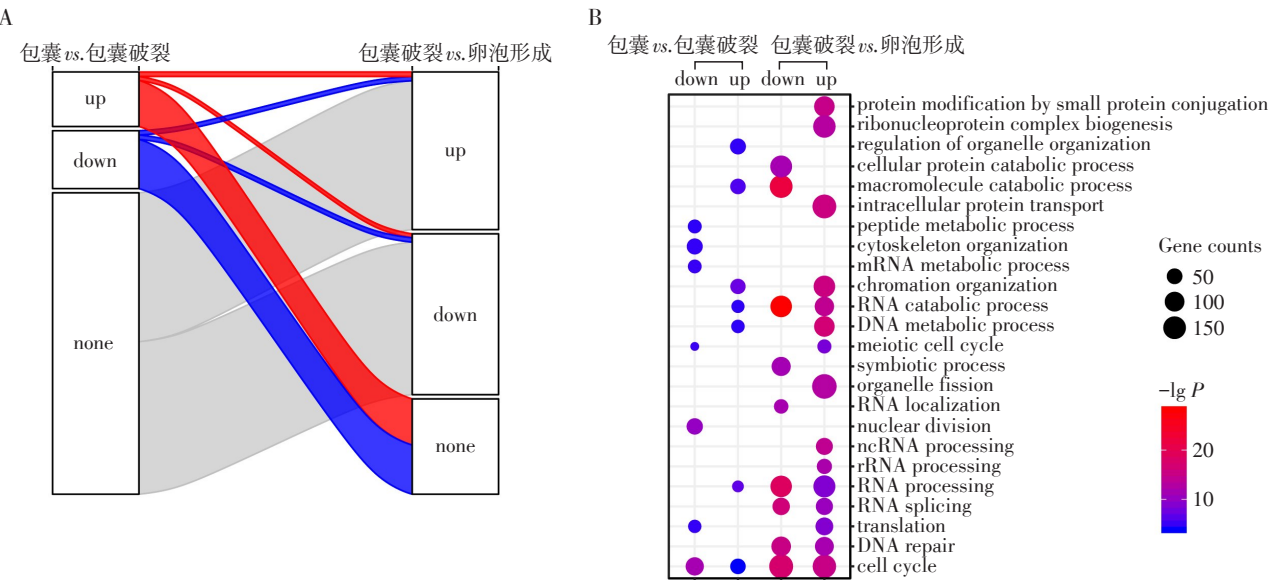
2.4 卵泡组装过程中可变剪切基因的动态调控

桑基图显示了卵母细胞从包囊到包囊破裂、包囊破裂到卵泡形成之间转换时DAS事件的动态变化,可见相比包囊到包囊破裂过渡阶段,包囊破裂到卵泡形成过渡阶段的可变剪切发生了剧烈变化(图3A)。GO分析揭示从包囊到包囊破裂DAS基因富集在细胞周期,从包囊破裂到卵泡期的DAS基因富集在RNA剪切、翻译、DNA修复过程和减数分裂细胞周期等生物学过程(图3B)。剪切调控

表3 卵泡组装过程7种差异可变剪切事件数目及占比
Table 3 The numbers and percentages of seven types of differential alternative splicing events during follicle assembly [n(%)]

可变剪切类型	P < 0.01 的 DAS 事件	
	包囊 vs. 包囊破裂	包囊破裂 vs. 卵泡形成
SE	269(30.1)	816(32.3)
A5	118(13.2)	341(13.5)
A3	149(16.7)	368(14.5)
RI	61(6.8)	176(7.0)
ME	11(1.2)	46(1.8)
AF	247(27.7)	676(26.7)
AL	38(4.3)	106(4.2)

中可变剪切基因,如异质核糖核蛋白(HRNP)家族基因的富集,表明卵泡组装过程中剪切机制的不同调节^[16]。SE 和 AF 类型的可变剪切基因 Sycp1 和 Hormad1 参与了第一次减数分裂前期突触复合体的形成^[17-18],它们在卵泡中的表达显著降低,PCR 实验结果表明它们在卵泡发育后期转录本外显子包含水平呈显著降低趋势(图4),这与卵母细胞减数分裂在二倍体期阻滞直至排卵相一致,表明可变剪切基因可能有着抑制减数分裂的作用。另一个确定的可变剪切基因 Kdm1a 编码一种组蛋白去甲基化酶,它能使组蛋白 H3 第4赖氨酸和组蛋白 H3 第9赖氨酸去甲基化,PCR 实验显示它的同源异构体在



A:可变剪切事件在包囊到包囊破裂转换以及包囊破裂到卵泡生成转换时的动态变化,up表示可变剪切事件发生指标PSI上调,down表示下调,none表示无差别;B:包囊到包囊破裂转换以及包囊破裂到卵泡生成转换差异(up或者down)可变剪切基因的基因功能富集, Gene counts表示富集基因数目。

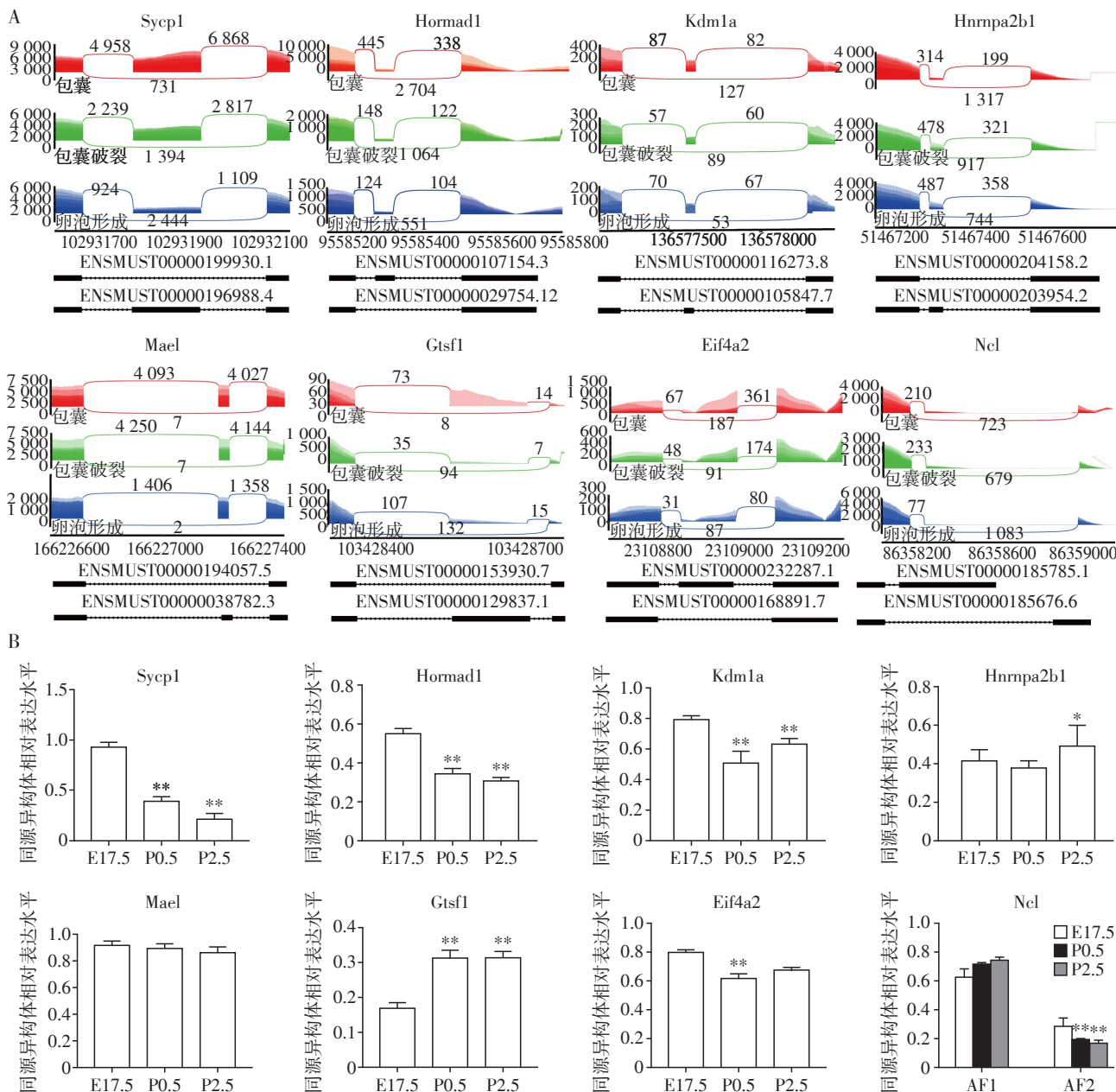
图3 卵泡组装过程可变剪切基因动态变化及功能富集
Figure 3 Dynamic changes and functional enrichment of alternative splicing genes during follicle assembly

不同发育阶段的卵细胞中也是动态变化的,这个结果和Kdm1a调节神经发育结果类似^[20],表明Kdm1a的同源异构体同时参与卵泡生成的调控。我们还检测了其他几个可变剪切基因,包括SE类型的Gtsf1、Eif4a2,AF类型的Ncl的动态变化。Gtsf1是一种基本的配子发生因子,在哺乳动物中高度保守,参与维持配子发生过程中的遗传稳定性,PCR实验显示它在卵泡中的表达显著上升,可能在卵泡发育过程中发挥重要作用^[21];Eif4a2是一种真核细胞翻译起始因子,在卵巢中有较高的表达;Ncl是一种核仁蛋白编码基因,两种AF类型的同源异构体呈现

不同的表达模式,可能也暗示着对卵泡发育不同的调控模式。因此,我们发现了以前未被识别的卵母细胞可变剪切事件以及参与调控卵泡组装中可变剪切基因的动态表达。

3 讨论

哺乳动物原始卵泡的组装是卵巢生殖生物学中最关键的过程之一,它直接影响雌性在整个生殖过程中可用的卵母细胞的储备,决定了生殖寿命。可变剪切是一种普遍存在的基因表达调节机制,通过该机制,单个基因可以器官、组织或细胞



A: 桑基图可视化可变剪切事件,图中曲线连接的地方代表剪切位点,横向坐标表示基因组坐标,纵向刻度表示对应的测序深度分布,曲线旁数字代表检测到的比对到该区域的reads数目;B:PCR 荧光灰度值分析E17.5、P0.5、P2.5时期可变剪切基因的同源异构体相对表达水平,与E17.5比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$ ($n=3$)。

图4 代表性差异可变剪切基因的可视化及PCR验证

Figure 4 Sashimiplots and PCR validation of representative differential alternative splicing genes

类型特异性的方式产生一个以上独特的 mRNA 种类^[9]。可变剪切是多细胞真核生物转录组高度复杂的重要原因,丰富了蛋白质和表型性状的多样性^[22]。小鼠基因组中的绝大多数(89%)蛋白质编码基因都经历了可变剪切^[13]。目前对大量细胞 RNA-seq 数据的可变剪切研究较多,只有较少的研究集中在单细胞水平上。

本研究在卵泡组装过程的细胞发育阶段转换之

间检测到广泛的可变剪切事件,尤其是卵泡期检测到了最多的可变剪切事件,其中包囊到包囊破裂和包囊破裂到卵泡期分别富集了 893 和 2 529 个 DAS 事件。这表明卵泡期的可变剪切较为活跃,为卵泡的功能性基因表达或蛋白多样性提供了支持。本研究数据也显示了可变剪切基因沿着发育轨迹的动态表达模式。这表明单细胞亚型多样性影响蛋白的编码谱,进而影响卵泡形成过程中的细胞分化。

本研究富集了大量与减数分裂调控有关的可变剪切事件,并验证了减数分裂相关基因亚型的存在,比如SE类型的Sycp1和Hormad1,并发现了它们在阶段转换时可变异构体的变化。在卵泡形成过程中,减数分裂或精子发生相关基因表达的显著降低与卵母细胞减数分裂在二倍体期阻滞直至排卵相一致。此外,该分析还有助于鉴定可能在卵母细胞发育中起作用的基因的功能亚型或蛋白质。这些可变剪切相关的基因亚型或蛋白是否在卵母细胞中发挥不可缺少的作用还需进一步的探究。除了SE类型剪切,本研究也揭示了AF剪切类型的富集,尤其是在包裹破裂到卵泡形成转换期间。总之,本研究结果揭示了可变剪切在卵泡组装过程中和细胞阶段转换相关,具有促进细胞分化、抑制减数分裂等作用,揭示了卵泡组装过程中转录-可变剪切偶联调控的重要性。

[参考文献]

- [1] ROSSETTI R, FERRARI I, BONOMI M, et al. Genetics of primary ovarian insufficiency[J]. Clin Genet, 2017, 91(2):183-198
- [2] CHON S J, UMAIR Z, YOON M S. Premature ovarian insufficiency: past, present, and future[J]. Front Cell Dev Biol, 2021, 9:672890
- [3] PODFIGURNA -STOPA A, CZYZYK A, GRYMOWICZ M, et al. Premature ovarian insufficiency: the context of long-term effects[J]. J Endocrinol Investig, 2016, 39(9): 983-990
- [4] WANG C, ZHOU B, XIA G. Mechanisms controlling germline cyst breakdown and primordial follicle formation [J]. Cell Mol Life Sci, 2017, 74(14):2547-2566
- [5] MCLAUGHLIN E A, MCIVER S C. Awakening the oocyte: controlling primordial follicle development[J]. Reproduction, 2009, 137(1):1-11
- [6] HE Y L, CHEN Q Z, DAI J C, et al. Single-cell RNA-Seq reveals a highly coordinated transcriptional program in mouse germ cells during primordial follicle formation[J]. Aging Cell, 2021, 20(7):e13424
- [7] MARASCO L E, KORNBLIHTT A R. The physiology of alternative splicing [J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2022, 24(4):242-254
- [8] VERTA J P, JACOBS A. The role of alternative splicing in adaptation and evolution[J]. Trends Ecol Evol, 2022, 37(4): 299-308
- [9] BARALLE F E, GIUDICE J. Alternative splicing as a regulator of development and tissue identity[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2017, 18(7):437-451
- [10] SOUMILLON M, NECSULEA A, WEIER M, et al. Cellular source and mechanisms of high transcriptome complexity in the mammalian testis [J]. Cell Rep, 2013, 3(6):2179-2190
- [11] SCHMID R, GRELLSCHEID S N, EHRLMANN I, et al. The splicing landscape is globally reprogrammed during male meiosis [J]. Nucleic Acids Res, 2013, 41(22): 10170-10184
- [12] TANG F, BARBACIORU C, NORDMAN E, et al. Deterministic and stochastic allele specific gene expression in single mouse blastomeres [J]. PLoS One, 2011, 6(6): e21208
- [13] DO D V, STRAUSS B, CUKUROGLU E, et al. SRSF3 maintains transcriptome integrity in oocytes by regulation of alternative splicing and transposable elements [J]. Cell Discov, 2018, 4:33
- [14] TRINCADO J L, ENTIZNE J C, HYSENAJ G, et al. SUPPA2: fast, accurate, and uncertainty - aware differential splicing analysis across multiple conditions [J]. Genome Biol, 2018, 19(1):40
- [15] GARRIDO-MARTIN D, PALUMBO E, GUIGO R, et al. Ggsashimi: sashimi plot revised for browser-and annotation-independent splicing visualization[J]. PLoS Comput Biol, 2018, 14(8):e1006360
- [16] GEUENS T, BOUHY D, TIMMERMAN V. The hnRNP family: insights into their role in health and disease [J]. Hum Genet, 2016, 135(8):851-867
- [17] DANIEL K, LANGE J, HACHED K, et al. Meiotic homologue alignment and its quality surveillance are controlled by mouse HORMAD1 [J]. Nat Cell Biol, 2011, 13(5):599-610
- [18] DE VRIES F A, DE BOER E, VAN DEN BOSCH M, et al. Mouse Sycp1 functions in synaptonemal complex assembly, meiotic recombination, and XY body formation [J]. Genes Dev, 2005, 19(11):1376-1389
- [19] ZIBETTI C, ADAMO A, BINDA C, et al. Alternative splicing of the histone demethylase LSD1/KDM1 contributes to the modulation of neurite morphogenesis in the mammalian nervous system [J]. J Neurosci, 2010, 30(7): 2521-2532
- [20] KROTZ S P, BALLOW D J, CHOI Y, et al. Expression and localization of the novel and highly conserved gametocyte-specific factor 1 during oogenesis and spermatogenesis[J]. Fertil Steril, 2009, 91(5 Suppl):2020-2024
- [21] WRIGHT C J, SMITH C W J, JIGGINS C D. Alternative splicing as a source of phenotypic diversity [J]. Nat Rev Genet, 2022, 23(11):697-710

[收稿日期] 2023-01-04

(责任编辑:蒋 莉)